

しかし、病院内での安定した計測場所の確保の問題や、協力して頂ける医師や看護師の配置換えによる研究の中断など忙しい医療現場でのベットの開発のむずかしさを痛感した。

また、理論面に重心がある工学的な研究と実務的な医学研究の重点の違いで研究の進め方が問題になった。次年度では、各研究者が気軽集えるサロン作りと、相互理解を深めるための開かれた組織作りをさらに進めたい。

E. 結論

本年度の目標であった機械開発とヒト作りは順調に達成できた。しかし、実学的医工学の研究・教育拠点育成にはベットの研究を継続的に運営できるさらなる安定した仕組み作りが必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 論文・学会発表

- 1) Ahsan H. Khandoker, Yoshitaka Kimura, Takuya Ito, Naoaki Sato, Kunihiro Okamura and Marimuthu Palaniswami. "Antepartum non-invasive evolution of opening and closing timings of the cardiac valves in fetal cardiac cycle" Med. Biol. Engg. & Comput, DOI 10.1007/s11517-009-0528-y. (査読有) 昨年度の論文の続き。胎児心奇形症例で胎児心ドプラ信号に対し SVM と wavelet 解析を用い、胎児心電図の R から心弁の開閉時の時間間隔を自動的に計測したもの。
- 2) HATAYA Toshiaki, KIMURA Yoshitaka, ITO Takuya, KARASHIMA Akihiro, KATAYAMA Norihiro, YAEGASHI Nobuo, NAKAO Mitsuyuki, A Simulation Study of Single-BSS with References Single-ICA can be very useful method to extract independent components from signal observed by single channel. IEICE technical report. ME and bio cybernetics 109(279), 37-40, 2009-11-05

(査読有)筋電図除去の原理に関する内容。

- 3) 松田尚美、医学博士論文「母体葉酸欠乏が胎仔胎盤発育に及ぼす影響とそのエピジェネティクス制御機構解析」
- 4) 幡谷速昭、工学修士論文「1 計測信号参照系独立成分分析法のシミュレーション研究」

学会発表 (国内)

- 1) 口頭発表
- ① 木村芳孝、「胎児心電図の開発の現状と今後」、胎児心電図研究会プレミーティング、京都国際会議場、2009年4月2日 (発表の概要)

胎児心電図開発の現状と今後の発展に関して報告した。

- 2) (高得点演題) 松田尚美、伊藤拓哉、千坂泰、木村芳孝、八重樫伸生、岡村州博、「母体葉酸欠乏が及ぼす胎仔胎盤発育における影響とそのエピジェネティクス制御機構解析」、第61回日本産科婦人科学、京都国際会館、4月5日 (発表の概要)

母体葉酸欠乏が胎児及び胎盤発育と遺伝子調節機構のエピゲネティクスにどのような影響が出るかを発表した。

2) 学会発表 (国際学会)

- 1) CLARISSA VELAYO, TAKUYA ITO, HIROSHI CHISAKA, NOBUO YAEGASHI, KUNIHIRO OKAMURA, YOSHITAKA KIMURA "Increased Susceptibility of Injury Prone Neuroglial Cells Due to Antenatal Steroid Treatment: A Case of Double Jeopardy" Society for Gynecologic Investigation (SGI) 3rd SGI International summit 2009, Japan, Sendai, 11月13日 (12-Nov)

(発表の概要)

母体ステロイド投与が胎児に及ぼす影響をマウス胎仔モデルを用いて検証した。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願
- ① 木村芳孝、八重樫伸生、中尾光之、伊藤拓哉、「信号抽出装置」、P20090088、出願日 2009年9月18日、出願番号等特願 2009-216716
2. 実用新案登録
- なし。
3. その他
- なし。

厚生労働科学研究費補助金（医療器機開発推進研究事業）

平成21年度 分担研究報告書

分子生物学を基盤とした人工感覚器の研究開発と教育

研究分担者 富田 浩史 国際高等研究教育機構 准教授

研究要旨

失明者の視機能を再建することを目的とし、機器により光受容を代用する人工網膜、遺伝子導入により網膜細胞に光受容能を賦与する遺伝子治療の2つの方法を検討している。本年度、人工網膜研究では、人工網膜チップをウサギ眼内にインプラントし、人工網膜チップの駆動試験を行った。また、インプラントによる副作用を調べる目的でダミーチップを眼内にインプラントし、定期的に眼底検査を行った。遺伝子治療研究では、遺伝子導入によって回復される視機能を詳細に調べる目的で、デジタル型オプトモーターを開発し、ラットを用いて回復される視力を調べた。また、サルでの回復試験を実施するために、カニクイザルをトレーニングし視力検査を行うシステムを立ち上げた。

以上の研究で、人工網膜研究では、三次元積層化技術を用いて設計した人工網膜チップが、生体内で駆動することを確認することができた。また、遺伝子治療では、ラットで回復される視力を行動学的に示し、サルでの視力検査法を確立した。

A. 研究目的

網膜色素変性症の遺伝子異常保因者は日本人4000~8000人に一人、人口で4~5万人はいると推定されている。網膜色素変性症と同様に視細胞変性により失明を来す疾患である加齢黄斑変性症は、アメリカでは中途失明原因の1位に位置し、日本でも高齢化社会の進行に伴い、増加の一途を辿っている。これらの疾患に対して、薬剤や遺伝子治療によって、変性を遅延させる方法が研究されているが、現時点では、有効な治療法は確立されていない。また、一旦失明に至ると、その視機能を再建する方法はない。

視機能を再建する方法として、世界的に機器によって光受容を代用する人工網膜が研究されている。すでに、アメリカ、ドイツでは臨床研究が行われ、形やものの動きを判別できることが示され、人工網膜の有用性が示されている。一方、眼内に多数の電極を配置できないなどの理由により、高い解像度が期待できないことも明らかになりつつある。

我々は、高い解像度を持つ視機能を作り出すことを目指して、東北大学独自の技術を用いた人工網膜チップ、緑藻類クラミドモナスの遺伝子を用いた遺伝子治療の2つの方法を検討している（図1）。人工網膜研究では、これまでに生体親和性素材の研究、至適パルス条件の検討を行い、三次元積層化技術を利用した人工網膜チップを作製している。遺伝子治療では、緑藻類より単離したチャンネルロドプシン-2 (ChR2) 遺

伝子の網膜への導入によって、遺伝盲ラットの視機能を回復できること明らかにしている。

本年度は、網膜三次元積層化人工網膜チップの生体内での駆動試験を行う目的でウサギ眼内にインプラントし、光刺激による視覚誘発電位を測定した。遺伝治療研究では、ChR2を網膜神経節細胞に特異的に発現するトランスジェニックラットを作製し、ChR2によって得られる視機能を調べた。

B. 研究方法

人工網膜

白色家兔の耳静脈よりヨーン酸ナトリウム(10mg/kg)を静注し、視細胞を変性させた。視細胞変性誘導後、網膜電図(ERG)、視覚誘発電位(VEP)を記録し、視細胞の変性を電気生理学的手法を用いて確認した。視細胞変性後、硝子体手術を行い、レチナルタックを用いて、網膜上に人工網膜チップを固定した。また、インプラントによる網膜組織の変化を調べる目的で、ダミーチップ（電源ケーブルを持たないチップ）をインプラントし、インプラント後の網膜の変化を調べた。

遺伝子治療

ChR2の網膜での発現が正常な視機能に及ぼす影響およびChR2によって得られる視覚特性を調べる目的で、生まれながらに、網膜神経節細胞にChR2を持つトランスジェニック (ChR2V-TG)

ラットを作製した。系統ごとに網膜伸展、網膜スライス標本を作製し、網膜での ChR2 遺伝子の発現部位を調べた。網膜神経節細胞にのみ ChR2 の発現が見られた系統について、デジタルオプトモーターを用いて行動学的に空間周波数特性、コントラスト感度を調べた。ChR2V-TG ラットの視細胞のみを選択的に変性させる目的で、少なくとも 2 週間、12 時間 5-10lux、12 時間 0lux の明暗周期で飼育した後、3000lux、7 日間連続光照射を行った。視細胞変性後、オプトモーターを用いて視覚特性を調べた。また、回復される視力を定量的に評価するために、カニクイザルのトレーニングを行い、ヒトの眼科視力検査と同等のランドルト環を用いた視力検査を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究に用いる実験動物の取扱いは、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律を遵守し、国立大学法人東北大学遺伝子組換え実験安全管理規定のもとに、東北大学動物実験施設において、その規定に従って管理する。特に今回、サル片眼失明モデルを作製するために、サル動物実験計画書については、東北大学動物実験倫理委員会によって慎重に議論され、本研究に関わる全ての動物実験、遺伝子組み換え実験は承認された。

C. 研究結果

人工網膜

ヨウソ酸ナトリウム静注後、ERG、VEP の振幅は顕著に減少し、視細胞の変性が引き起こされたものと予想された。人工網膜チップをインプラント後、光刺激により誘発電位が記録された。しかし、インプラント前の駆動試験で得られた、設定値（抵抗、電流値、パルス幅）とは異なる条件で、記録することが可能であった。ダミーチップをインプラントした直後の眼底写真で、人工網膜固定部位で網膜が圧迫されている像が観察された。また、2 ヶ月後では、固定部位に加えて、人工網膜チップ電極のエッジ部に同様に圧迫像が観察された。6 ヶ月後、眼球を摘出し、組織標本を作製し、接地部位を観察したところ、人工網膜チップ電極が接地していた部位でわずかに網膜層の非薄化が見られた。また、エッジ部位と思われる箇所で網膜の障害が観察された (図 2)。

遺伝子治療

網膜神経節細胞の特異的抗原である Thy1 のプロモーターを利用して、神経節細胞特異的に ChR2 を発現するトランスジェニックラットを作製した (ChR2V-TG)。トランスジェニックラット、7 系統を調べた結果、系統 4 では、神経節細胞特異的に ChR2 の発現が認められたため、以降の実験には系統 4 を用いた。正常な視細胞を持つ ChR2V-TG ラットの視覚特性は ChR2 を持たない野生型ラットと同等の空間周波数特性、コントラスト感度を示した。一方、視細胞を変性させた ChR2-TG ラットでは、空間周波数特性は野生型と同等であったのに対し、コントラスト感度は顕著に上昇した (図 3)。

D. 考察

人工網膜

インプラント前の駆動試験で得られた、設定値（抵抗、電流値、パルス幅）とは異なる条件で、記録することが可能であったことから、インプラント後にその固体に応じた設定値を改めて設定する必要があることが明らかとなった。この差は、網膜との接地間隔、場所などの違いから起こると考えられる。我々の開発した人工網膜は外部から無線で設定値を変えられる仕様となっており、固体毎の設定値変更も容易である。

インプラントにより、網膜組織に軽微な障害が引き起こされることが明らかとなった。人工網膜チップ電極接地面のエッジ部位が網膜に障害を引き起こさないように、何らかの工夫が必要と思われた。

遺伝子治療

神経節細胞には種々の役割の異なる神経節細胞が存在し、それらの神経節細胞に様に ChR2 が導入された時にどのような視覚が得られるか不明であった。今回のトランスジェニックラットを用いた研究から、神経節細胞の種類に関係なく、ChR2 が導入されたとしても高度な視覚が得られる可能性が示された。しかし、トランスジェニックラットでの研究であり、生まれながらにして ChR2 を発現しているために、トランスジェニックラットの視覚システムが正常な視覚システムと同じであったかどうかは疑問がある。今後はサルでの視力検査を実施し、回復される視力を評価する必要がある。

E. 結論

人工網膜

今回、三次元積層化人工網膜が、生体内で実際に駆動することが確認された。今後は長期的なインプラントを想定し、人工網膜の形状が引き起こす、物理的障害について検討する必要がある。

遺伝子治療

ChR2 を網膜神経節細胞に導入することによって、青色に限定すると、正常と同等の視覚特性が得られることが明らかになり、新たな視覚再建法となる可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tomita H, Sugano E, Isago H, Hiroi T, Wang Z, Ohta E, Tamai M. Channelrhodopsin-2 Gene Transduced into Retinal Ganglion Cells Restores Functional Vision in Genetically Blind Rats. *Exp Eye Res*, 90, 426-436, 2010.
2. Tomita H, Sugano E, Isago H, Tamai M. Channelrhodopsins provide a breakthrough insight into strategies for curing blindness. *J Genetics*, 88, 409-415. 2009.
3. Tomita H, Sugano E, Fukazawa Y, Isago H, Sugiyama Y, Hiroi T, Ishizuka T, Mushiake H, Kato M, Hirabayashi M, Shigemoto R, Yawo H, Tamai M. Visual Properties of Transgenic Rats Harboring the Channelrhodopsin-2 Gene regulated by the Thy-1.2 Promoter. *PLoS ONE*, 4(11), e7679, 2009.

2. 学会発表

1. 富田浩史:「チャネルロドプシンの遺伝子導入によって得られる視覚」第63回臨床眼科学会 専門別研究会 特別講演(福岡) 2009
2. 富田浩史:「チャネルロドプシン-2による視覚再建」視覚科学技術コンソーシアム(VSAT) 特別講演(仙台) 2009

3. 富田浩史:「緑藻類由来遺伝子の導入による視覚再生の現状と課題」日本眼科学会総会シンポジウム13(東京) 2009

4. 菅野江里子、富田浩史、姫志剛、松坂義哉、虫明元、砂金ひとみ、廣井照、玉井信:「カニクイサルを用いた視機能評価」第63回日本臨床眼科学会(福岡) 2009

3. 医療講演会

1. 富田浩史:「視機能再建のための遺伝子治療、チャネルロドプシンによって得られる視覚特性」日本網膜色素変性症協会(JRPS)宮城県支部総会・医療講演会(仙台) 2009
2. 富田浩史:「緑藻由来遺伝子を利用した視覚再生研究」日本網膜色素変性症協会(JRPS)新潟県支部総会・医療講演会(新潟) 2009

4. その他

1. 河北新報朝刊(2009年11月6日一面)「緑藻遺伝子で視力再生」
2. 一般向け科学雑誌「NEWTON」2010年2月号(12月26日発売)「藻のタンパク質が眼で働く!？」
3. 子供の科学 3月号 「藻類の遺伝子で視力回復」
4. NHK ラジオ第2放送 2010年2月8日
【国内向け英語放送】番組名:「Japan & World Update」14:00~14:30(後半10分間)
【海外向け短波ラジオ放送】英、仏、中国、アラビアなど17言語で放送

H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む。)

1. 特願2009-185455、「発現効率が改善された光受容チャネルロドプシン」、発明者:富田浩史、菅野江里子、出願日:H21年8月10日

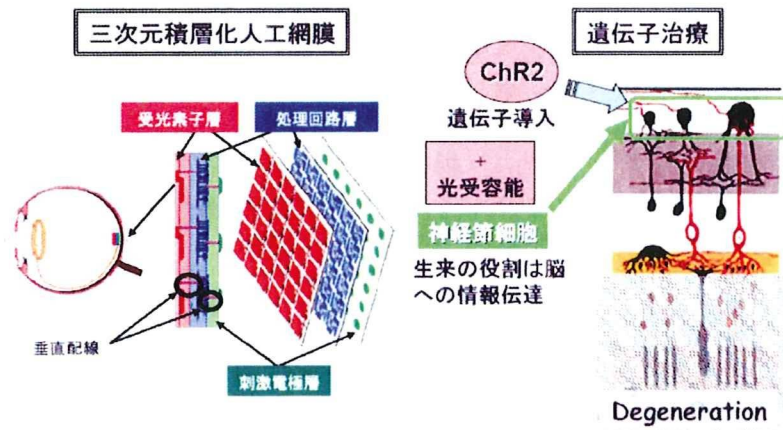


図1 工学、分子生物学技術を用いた視覚再生法

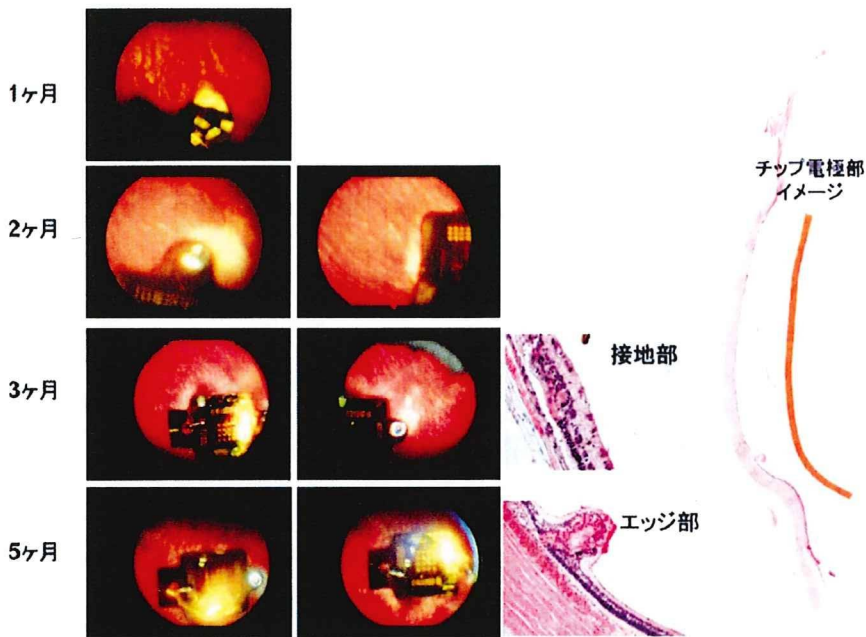


図2 インプラント後の眼底像および網膜組織標本

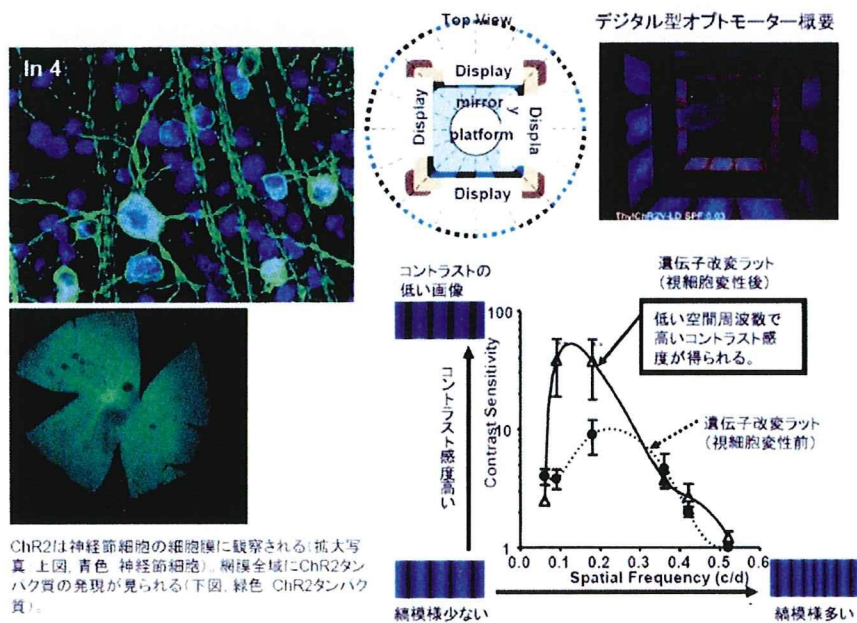


図3 ChR2V-TGラットの視機能解析

ヒト胚品質診断システムの開発と若手研究者の育成

研究分担者 阿部 宏之 山形大学教授

研究要旨：マイクロ電極をセンサープローブとする電気化学計測技術は、局所的な生体反応を高感度・非侵襲的に計測できる技術である。本研究では、電気化学計測技術を応用した細胞呼吸測定技術を開発するとともに、走査型電気化学顕微鏡をベースに不妊治療に応用可能な「臨床対応型細胞診断装置」の開発を目的とする。本研究事業では、これら計測技術及び装置の開発に関する研究を通じて、先端的工学技術を医療に応用するために重要である工学と生物・医学との異分野融合研究の意義を教育するための実学的医工学教育システムの構築を目指す。

A. 研究目的

電気化学計測技術はマイクロ電極をセンサープローブとし、生体反応を非侵襲的に高感度で計測できる有効な技術の一つである。昨年までの研究によって、電気化学計測技術を応用した細胞呼吸計測技術を確立するとともに、走査型電気化学顕微鏡を基盤とする「細胞呼吸測定装置」の開発に成功している。この装置は、単一の細胞や受精卵の酸素消費量（呼吸）を非侵襲的にモニタすることができることから、呼吸活性を指標に細胞や受精卵の機能・品質診断装置として医療への応用が期待されている。本研究では、細胞呼吸測定装置をベースに医療応用可能な「受精卵呼吸測定装置」を開発し、この装置を用いた「ヒト胚品質診断システム」の開発を目指す。また、工学技術を医療へ応用するための実学的医工学教育システムとして、装置開発に携わる若手工学研究者に対して、工学と生物学の異分野融合研究の意義と方法について教育する。

B. 研究方法

受精卵や卵子の品質（クオリティー）は着床率に大きく影響することから、不妊治療の成功率向上のためには精度の高い胚品質診断法の開発が不可欠である。これまでの研究により、ミトコンドリア呼吸機能が胚の品質を評価する有効な指標になることが示唆されている。今年度は、電気化学計測技術を応用して開発した細胞呼吸測定装置を用いて、ウシ卵子の体外成熟過程における呼吸能変化を解析し、呼吸測定装置の単一細胞呼吸計測に対する有効性を検証した。また、不妊治療における臨床応用のための基礎データ収集を目的にヒト余剰胚の呼吸量測定とミトコンドリアの超微細形態変化を解析した。

屠体雌牛卵巣より卵胞吸引により未成熟卵子を回収した。卵丘細胞が付着した未成熟卵子（卵丘細胞-卵子複合体：COC）をIVMD101培地

（機能性ペプチド研製：修正TCM199培地にTGF- α 、インシュリンなどを含む）で体外培養した後、種々の実験に用いた。COC及び卵子の呼吸量は、走査型電気化学顕微鏡（SECM）を改良した「受精卵呼吸測定装置」を用いて測定した。呼吸測定装置専用に開発した測定プレートに施した円錐形マイクロウエルの底部中心に試料を静置させた後、微小電極を試料近傍に移動した後、微小電極をZ軸方向に（31.0 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 、160 μm ）3回走査し試料の酸素消費量（呼吸量）を測定した。測定には、「受精卵呼吸測定液：ERAM-2」（機能性ペプチド研製）を用いた。COCの呼吸量を測定した後、卵子の呼吸量を測定するためにCOCを0.5%プロナーゼで処理し、卵丘細胞及び透明帯を完全に除去することで卵子を単離した。単離した卵子の近傍をマイクロ電極で走査し呼吸量を測定した。

細胞小器官などの超微細形態を観察するために一部のCOC及び卵子は、2.5%グルタルアルデヒドで4 $^{\circ}\text{C}$ 、1-2時間固定した。0.1Mリン酸緩衝液で洗浄後、1%オスミック酸で4 $^{\circ}\text{C}$ 、1時間固定した。固定液は全て0.1Mリン酸緩衝液で使用濃度に調製した。COC及び卵子はエタノールで脱水した後、プロピレンオキシドで置換し、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は酢酸ウラン及び硝酸鉛で染色した後、透過型電子顕微鏡（日本電子JEM-1210）で観察した。

ヒト胚の呼吸能生解析研究では、全て患者の同意が得られた余剰胚を使用した。凍結保存余剰胚は、融解後、HTF培地に10%ヒト合成血清（SS）を添加した培地で培養し、1細胞（2PN胚）、2-8細胞、および桑実胚-胚盤胞の異なる3段階の発生ステージに分類し呼吸量を測定した。呼吸測定した胚の一部は、ミトコンドリアの微細構造変化を調べるために、定法に従いグルタルアルデヒドとオスミック酸で固定後、超薄切片を作製し透過型電子顕微鏡により微細構造を観察した。

(倫理面への配慮)

通常、不妊治療目的で回収又は作製されたヒト卵子や受精胚は倫理的な問題もあり研究に用いることは不可能である。したがって、本研究ではマウスや家畜など動物由来の卵子及び胚を主な研究材料として用いる。また、臨床試験に先立ちヒト生殖細胞に関するデータの収集が必要になるが、これは不妊治療が終了した患者の同意(インフォームド・コンセント)が得られた胚(余剰胚)を用いることで解決する。余剰胚は短期間の培養に限定し、実験終了後は速やかに所定の方法で廃棄する。呼吸測定等に用いる余剰胚の発生ステージは着床以前の胚盤胞(受精後4-5日)までに限定することで日本産婦人科学会及び日本不妊学会で定めている生殖医療技術ガイドラインには抵触しない。

C. 研究結果

(a)採取直後のCOC及び卵子の呼吸量

細胞呼吸測定装置を用いて採取直後のCOC及び卵子の呼吸量を測定した。その結果、COCの呼吸量は試料間で大きく異なり(0.30-16.50 $\times 10^{-14}$ mol \cdot s $^{-1}$)、呼吸量の大きいCOCから単離した卵子は、比較的高い呼吸活性を示した(表1)。卵丘細胞が密に多層付着しているCOCの多くは、非常に高い呼吸活性値を示したが、卵丘細胞の膨潤や剥離が認められたCOCの呼吸量は非常に低かった(図1)。

表1. ウシ卵丘細胞-卵子複合体(COC)及び卵子の酸素消費量 ($\times 10^{14}/\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$)

試料No.	COC	卵子
1	16.50	0.57
2	15.36	0.53
3	11.8	0.61
4	9.89	0.85
5	8.79	0.88
6	5.75	0.60

7	1.48	0.07
8	0.98	0.23
9	0.89	0.34

【図1】

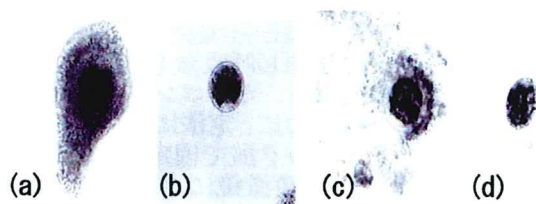
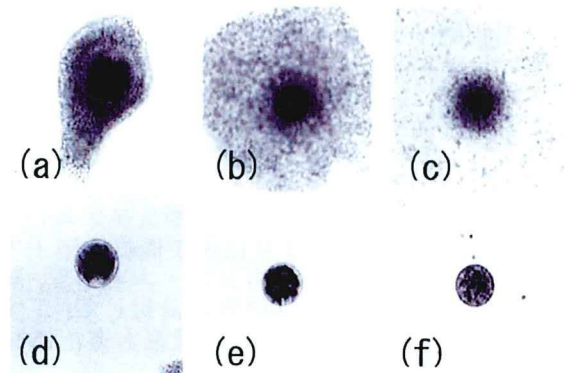


図1. ウシ卵巣から採取した直後の卵丘細胞-卵子複合体(COC)及び卵子の形態。(a, b)卵丘細胞が密に多層付着しているCOC(a)と、それから単離した未成熟卵子(b)。(c, d)卵丘細胞層が膨潤し、一部細胞が剥離しているCOC(c)と、それから単離した未成熟卵子(d)。COC及び未成熟卵子の酸素消費量($\times 10^{-14}$ mol \cdot s $^{-1}$)は、それぞれa:11.80, b:0.61, c:0.30, d:0.19であった。

(b)体外成熟培養過程におけるCOC及び卵子の形態及び呼吸量変化

無血清培養液IVMD101を用いて卵子の成熟培養を行い、COC及び卵子の形態と呼吸量の変化を調べた。その結果、成熟培養によって卵丘細胞の顕著な膨潤が起こったが、卵子では顕著な形態変化は認められなかった(図2)。次に、「受精卵呼吸測定装置」を用いて成熟培養したCOC及び卵子の呼吸量を測定した結果、COCの呼吸量は成熟培養24時間で有意に低下したが、卵子の呼吸量は成熟培養により有意に増加した(図3)。

【図2】



【図3】

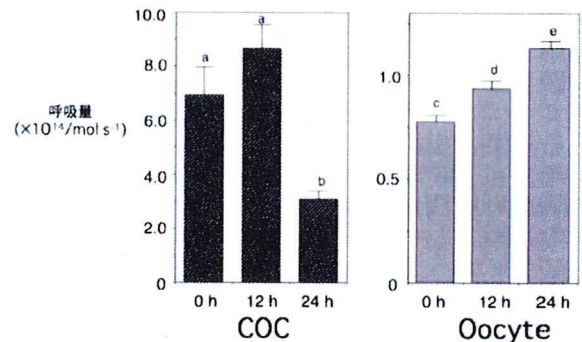


図3. 成熟培養を行った卵丘細胞-卵子複合体(COC)及び卵子(Oocyte)の酸素消費量(呼吸量)。異符号間では有意差($P < 0.05$)有り。

(c) 体外成熟培養過程におけるCOC及び卵子の超微細形態変化

無血清培養液IVMD101を用いて成熟培養を行ったCOC及び卵子の超微細形態を観察した。卵巣から採取した直後の未成熟卵子では、卵丘細胞の突起と卵子との間にギャップ結合が観察され、卵子表層にはミトコンドリアと表層顆粒のクラスターが多く観察された(図4a)。一方、成熟培養24時間のCOCでは卵丘細胞と卵子間のギャップ結合のほとんどは消失し、表層顆粒は卵細胞膜直下のほぼ均等に分布していた(図4b)。また、ミトコンドリアの多くは卵表層部から核周辺部に移動し、未成熟卵子で観察されたクラスターはほとんど観察されなかった。

【図4】

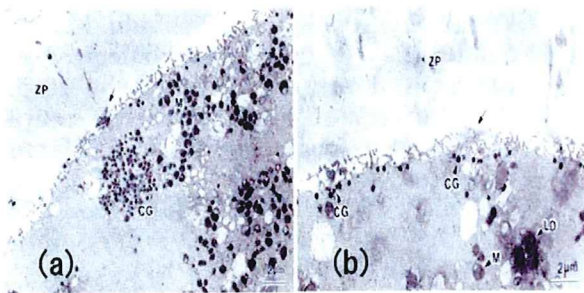


図4. ウシ卵子の超微細構造観察。(a)卵巣から採取した直後の未成熟卵子。卵丘細胞の突起と卵子間にはギャップ結合が観察される(矢印)。(b)成熟培養24時間を行った卵子。卵細胞膜直下には表層顆粒(CG)が分布している。COC-卵子間のギャップ結合は消失している(矢印)。LD: 脂肪滴、M: ミトコンドリア、ZP: 透明帯。

今回の検討により、卵子及び卵丘細胞の呼吸活性は、卵丘細胞-卵子ギャップ結合の消失やミトコンドリアの細胞内移動に密接に関連してことが明らかになった。卵子は単一の細胞であるため、受精卵のように割球の数や形態を基準に品質を評価することは困難である。このため、卵細胞質の状態(透明度や細胞内顆粒の分布状態など)や卵丘細胞の付着状態を指標に品質が評価されてきた。一般に、卵丘細胞が密にほぼ均一に付着し、卵丘細胞とのギャップ結合が正常に発達している卵子は、成熟率が高く品質良好胚へ発生する割合も高い傾向にあり、また細胞表層から核周辺部へのミトコンドリアの移動は卵成熟の重要な指標の一つとなっている。このように、細胞呼吸測定装置を用いた呼吸量測定は、卵子成熟過程におけるミトコンドリア呼吸機能の解析や卵子のクオリティー評価に極めて有効な手法になると考えられる。

(d) ヒト胚の呼吸活性とミトコンドリアの超微

細形態変化

各発生ステージにおけるヒト胚の酸素消費量($\times 10^{14}/\text{mol s}^{-1}$)を測定した結果、2-8細胞期胚では 0.51 ± 0.05 ($n=18$)であり、これまでに測定されているウシ胚と同程度であった。桑実胚から初期胚盤胞にかけて呼吸量の増加が認められ(0.61-0.72)、胚盤胞(拡張胚盤胞を含む)において最も高い呼吸量が測定された(1.06 ± 0.05 , $n=4$)。電子顕微鏡観察の結果、1細胞期胚および2-8細胞期胚においてミトコンドリアは小型で球状の未成熟形態であったが、桑実胚ではミトコンドリアの形態的な発達が観察された。胚盤胞では拡張したクリステをもつミトコンドリアが多く観察されたことから、呼吸量の増加とミトコンドリアの発達が密接に関連していることが明らかになった。

昨年度に引き続き、電気化学計測技術など工学技術の有用性を検証するために、電子顕微鏡観察などの生物学的解析の重要性を中心に、若手工学研究への研究指導を実施した。従来 of 工学研究ではあまり馴染みのない受精卵培養実験や顕微鏡標本作製などを実施することで、生物学・医学の観点から工学技術を医療に応用するための重要なポイントについての研究・教育に関する実践指導を行った。

D. 考察

本研究では、未成熟のウシ卵子の呼吸量測定に成功した。これまで受精直後から胚盤胞までの呼吸量測定には成功していたが、今回は呼吸活性が低く測定が困難であると考えられた未成熟卵子の呼吸活性を測定することができた。これにより、走査型電気化学顕微鏡をベースに開発した「細胞呼吸測定装置」は単一細胞(卵子)の呼吸測定が可能な高感度計測装置であることが示された。

今年度の注目すべき研究成果は、ヒト胚(余剰胚)の発生過程における呼吸測定に成功し、呼吸量変化とミトコンドリアの発達が一致することを明らかにしたことである。ヒト胚はウシ胚と比べて小型であり呼吸活性も低い可能性があったことから、細胞呼吸測定装置による呼吸測定には若干の困難が予想された。しかしながら、ヒト初期胚においても安定した呼吸量の測定ができたことから、「細胞呼吸測定装置」は感度面・操作性において極めて汎用性の高い測定システムであり、医療への応用が十分可能であることが示された。

本研究では、「細胞呼吸測定装置」は卵子や受精卵のミトコンドリア呼吸を高精度で検出できることが示唆された。ミトコンドリア呼吸機能は卵子や胚のクオリティーと密接に関係していると考えられることから、「細胞呼吸測定装置」はヒト胚の品質評価システムの基盤技術として期待できる。

今年度までの研究成果を踏まえ、「細胞呼吸測定装置」を用いたヒト胚の品質評価法を開発

するためには、(1)生物学的解析による呼吸計測の有効性検証、(2)胚の培養試験等による有効性・安全性の検証、(3)異なる培養条件で発生した胚の呼吸能解析と培養液の性能評価試験、などの課題解決が必要である。

工学技術の医療応用を促進するためには、これまで以上に若手工学研究者の意識改革を促す必要がある。これを達成するためには、工学と生命科学の境界領域研究の重要性を教育するためのシステム構築が重要であると考えられる。

E. 結論

今年度の研究により以下の結論に達した。

- (1) 電気化学計測技術を応用して開発した「細胞呼吸測定装置」は、単一のウシ未成熟卵子およびヒト胚の呼吸測定に有効であった。
- (2) 「細胞呼吸測定装置」は、高精度でミトコンドリア呼吸活性をモニタできることが示された。
- (3) 呼吸活性を指標とするウシ卵子およびヒト胚の品質評価システム開発のための基盤構築ができた。
- (4) 工学研究サイドからの実学的医工学教育には、工学と生命科学の境界領域研究の重要性を教育するためのシステム構築が重要である。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Sugimura S., Yokoo M., Yamanaka K., Kawahara M., Wakai T., Nagai T., Abe H., Sato E. (2010) Anomalous oxygen consumption in porcine somatic cell nuclear transfer embryos. *Cellular Reprogramming*, in press.
- (2) Kimura N., Tsunoda T., Iuchi Y., Abe H., Totsukawa K., Fujii J. (2010) Intrinsic oxidative stress causes either two-cell arrest or cell death depending on developing stages of the embryos from SOD1-deficient mice. *Molecular Human Reproduction*, in press.
- (3) 後藤香里、小池恵、熊迫陽子、宇津宮隆史、荒木康久、阿部宏之 (2010) 電気化学的呼吸計測技術におけるヒト胚クオリティー評価と安全性、受精着床学会雑誌、Vol. 27, No. 1、印刷中
- (4) Sakagami N., Yamamoto T., Akiyama K., Nakazawa Y., Kojima N., Nishida K., Yokomizo S., Takagi Y., Abe H., Suzuki C., Yoshioka K. (2010) Viability of porcine embryos after vitrification using water-soluble pullulan films. *J. Reprod. Dev.*, in press.
- (5) Yamashiro H., Toyomizu M., Kikusato M., Toyama N., Sugimura S., Hoshino Y., Abe H., Moisyadi S., Sato E. (2010)

Lactate and adenosine triphosphate in extender enhance the cryosurvival of rat epididymal sperm. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 49:160-166.

- (6) Kyono K., Nakajo Y., Nishinaka C., Hattori H., Kyoya T., Ishikawa T., Abe H., Araki Y. (2009) A birth from the transfer of a single vitrified-warmed blastocyst using ICSI with calcium ionophore oocyte activation in a globozoospermic patient. *Fertil. Steril.*, 91: e7-e11.
 - (7) Shiku H., Yamakawa T., Nashimoto Y., Takahashi Y., Torisawa Y., Yasukawa T., Ito-Sasaki T., Yokoo M., Abe H., Kambara H., Matsue T. (2009) A microfluidic dual capillary probe to collect messenger RNA from adherent cells and spheroids. *Anal. Biochem.*, 385: 138-142.
 - (8) Murakawa H., Aono N., Tanaka T., Kikuchi H., Yoshida H., Yoshida H., Yokoo M., Abe H. (2009) Morphological evaluation and measurement of the respiration activity of cumulus-oocyte complexes to assess oocyte quality. *J. Mamm. Ova Res.*, 26: 32-41.
 - (9) 阿部宏之 (2010) 胚の機能検定法、カラーアトラス不妊治療のための卵子学、鈴木秋悦編、医歯薬出版、p. 127-131.
 - (10) 阿部宏之 (2010) 電気化学計測技術を応用したシングルセル呼吸機能解析と応用、シングルセル解析の最前線、監修：神原秀記、松永是、植田充美、シーエムシー出版、103-111.
- ##### 2. 学会発表
- (1) 阿部宏之 (2009) 生殖細胞呼吸活性測定のための新規デバイス開発、宇宙環境における生殖・継世代研究の展開WG談話会(宇宙生殖WG2009年会)(東京都、東京大学教養学部、2009年12月26日)
 - (2) 阿部宏之、熊迫陽子、後藤香里、小池恵、城戸京子、宇津宮隆史 (2009) 電気化学計測技術を応用したヒト胚クオリティー評価、第19回日本MRS学術シンポジウム(横浜市、横浜市開港記念会館、2009年12月7-9日)
 - (3) 高野真一郎、伊達安基、伊藤・佐々木隆広、横尾正樹、伊野浩介、珠玖仁、阿部宏之、末永智一 (2009) マウス胚呼吸活性評価のための電気化学マイクロデバイスの開発、第19回日本MRS学術シンポジウム(横浜市、横浜市開港記念会館、2009年12月7-9日)
 - (4) 後藤香里、熊迫陽子、小池恵、城戸京子、佐藤晶子、宇津宮隆史、荒木康久、阿部宏之 (2009) 選択的単一胚移植 (eSET) において移植胚選別困難例に対する呼吸量測定の有効性、第54回日本生殖医学会総会・学術講演会(金沢市、石川県立音楽堂・ANAクラウンプラザホテル金沢、2009年11

- 月22-23日)
- (5) Utsunomita T., Kumasako Y., Goto K., Koike M., Araki Y., Abe H. (2009) Clinical efficacy of a novel evaluation method with measurement of embryo respiration activity using a scanning electrochemical microscopy. The 65th Annual Meeting of American Society for Reproductive Medicine (Atlanta, USA, October 17-21, 2009)
- (6) Tanaka T., Aono N., Yokoo M., Abe H., Yoshida H. (2009) Effect of vitrification on metabolism of human embryo. The 65th Annual Meeting of American Society for Reproductive Medicine (Atlanta, USA, October 17-21, 2009)
- (7) 阿部宏之、横尾正樹、熊迫陽子、後藤香里、小池恵、宇津宮隆史 (2009) 電気化学計測技術を応用したヒト胚クオリティ評価、第47回日本生殖医学会東北支部総会学術講演会 (山形市、山形大学医学部・山形医学交流会館、2009年10月10日)
- (8) 阿部宏之、齋藤剛史、横尾正樹、珠玖仁、末永智一 (2009) 超高感度細胞呼吸計測技術を応用した単一卵子呼吸能解析、第80回日本動物学会 (静岡市、静岡コンベンションアーツセンターグランシップ、2009年9月17-20日)
- (9) 阿部宏之 (2009) 電気化学計測技術を応用した受精卵品質評価システムの開発と医療応用、産学連携交流会 (山形市、山形国際ホテル、2009年9月17日)
- (10) 田中俊幸、青野展也、岩佐由紀、加茂野倫子、菊地裕幸、鈴木麻美、村川晴生、吉田英宗、横尾正樹、阿部宏之、吉田仁秋 (2009) 呼吸量測定による凍結・融解胚のQuality評価、第12回日本IVF学会 (仙台市、仙台江陽グランドホテル、2009年9月12-13日)
- (11) 阿部宏之 (2009) 電気化学計測技術を応用した受精卵品質評価システムの開発と医療応用、山形大学工学部100周年記念フォーラム (米沢市、伝国の杜、2009年9月4日)
- (12) 熊迫陽子、後藤香里、小池恵、城戸京子、佐藤晶子、宇津宮隆史、荒木康久、阿部宏之 (2009) 走査型電気化学顕微鏡を用いた胚品質評価の選択的単一胚移植 (eSET) への臨床的有用性、第27回日本受精着床学会総会・学術講演会 (京都市、国立京都国際会館、2009年8月6-7日)
- (13) 阿部宏之 (2009) 呼吸活性から見た胚の選別、第27回日本受精着床学会総会・学術講演会 (京都市、国立京都国際会館、2009年8月6-7日)
- (14) 田中俊幸、青野展也、岩佐由紀、加茂野倫子、菊地裕幸、鈴木麻美、村川晴生、吉田英宗、横尾正樹、阿部宏之、吉田仁秋 (2009) 多前核胚の呼吸能解析、第27回日本受精着床学会総会・学術講演会 (京都市、国立京都国際会館、2009年8月6-7日)
- (15) 横尾正樹、伊藤-佐々木隆広、珠玖仁、末永智一、阿部宏之 (2009) 呼吸活性を指標とした胚の品質評価：マウス胚着床試験の成績と産子の正常性について、第27回日本受精着床学会総会・学術講演会 (京都市、国立京都国際会館、2009年8月6-7日)
- (16) 阿部宏之 (2009) ヒト胚を用いた走査型電気化学顕微鏡 (SECM) による呼吸測定の臨床的有用性、第6回A-PART日本支部・第3回Minimal Stimulation研究会合同学術講演会 (東京都、都市センターホテル、2009年5月30-31日)
- (17) 阿部宏之 (2009) 超高感度細胞呼吸測定装置の開発と医療応用、第7回ミキシングコンファレンス in 米沢 (米沢市、伝国の杜、2009年5月29日)
- (18) Kasai S., Numata T., Shiku H., Abe H., Matsue T., Niizeki Y. (2009) Real-time monitoring of oxygen consumption during differentiation of human monocyte cell lines (THP-1) by scanning electrochemical microscopy. 215th The Electrochemical Society Meeting (San Francisco, USA, May 24-29, 2009)
- (19) 阿部宏之、珠玖仁、青柳重夫、宇津宮隆史、末永智一、星宏良 (2009) 電気化学計測技術を応用した超高感度細胞呼吸計測装置の開発と医療応用、日本組織培養学会第82回大会 (栃木県下都賀郡、獨協医科大学、2009年5月18-19日)
- (20) 熊迫陽子、後藤香里、小池恵、城戸京子、佐藤晶子、宇津宮隆史、荒木康久、横尾正樹、阿部宏之 (2009) 走査型電気化学顕微鏡を用いた胚品質評価の選択的単一胚移植 (eSET) への臨床的有用性、第50回日本哺乳動物卵子学会 (東京都、都市センターホテル、2009年5月8-9日)
- (21) 横尾正樹、木村直子、珠玖仁、末永智一、阿部宏之 (2009) 母体の加齢が卵子のミトコンドリア機能に及ぼす影響、第50回日本哺乳動物卵子学会 (東京都、都市センターホテル、2009年5月8-9日)
- (22) 角田智志、木村直子、阿部宏之、戸津川清、藤井順逸 (2009) SOD1欠損マウス胚では内因性酸化ストレスがミトコンドリア機能障害を伴わない2細胞期発生停止を引き起こす、第50回日本哺乳動物卵子学会 (東京都、都市センターホテル、2009年5月8-9日)
- (23) Abe H., Yamashita S., Hoshi H. (2009) Respiratory activity and ultrastructural features of bovine embryos developed in different culture systems using serum-free or serum-containing media. 15th World Congress on In Vitro Fertilization, Geneva, Switzerland, April 19-22, 2009.
- (24) Utsunomiya T., Kumasako Y., Goto K., Koike M., Yokoo M., Abe H. (2009)

Clinical efficacy of a novel evaluation method with measurement of embryo respiration activity using a scanning electrochemical microscopy. 15th World Congress on In Vitro Fertilization, Ge

neva, Switzerland, April 19-22, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況
1.特許取得（出願）

厚生労働科学研究費補助金 (医療機器開発推進研究事業)
平成 21 年度分担研究報告書

医工学若手研究者の研究教育システムの構築に関する研究

分担研究者	佐藤正明	東北大学大学院医工学研究科 研究科長/生体力学研究分野教授
	玉井 信	東北大学大学院医学系研究科 客員教授
	永富良一	東北大学大学院医工学研究科健康維持増進医工学分野 教授
	出江 紳一	東北大学大学院医工学研究科リハビリテーション医工学分野 教授
	高橋 明	東北大学大学院医工学研究科血管再建医工学分野 教授
	阿部高明	東北大学大学院医工学研究科分子病態医工学分野 教授
	福島浩平	東北大学大学院医工学研究科消化管再建医工学分野 教授

研究要旨

21 世紀 COE プロジェクト「バイオテクノロジー基盤未来医工学」(2002-2006)、科学技術振興調整費科学技術拠点育成「先進医工学研究機構 (TUBERO)」(2003-2007) により、境界領域医工学研究の優れた人材養成と、そのシーズを臨床にもたらすことを目指してきた。この活動は日本の医工学研究で最も世界に遅れている部分を埋めようとする試みであった。本事業では今年度終了する TUBERO の事業を継続・発展させ、研究成果の臨床研究のみでなく、医工学研究を志す若手大学院生、企業の研究者に「シーズの開発」とともに、「臨床までもたらす努力」の意識、すなわち我々が経験した「臨床研究までの障害を如何に克服するか」を教育した。

A. 研究目的

研究シーズを臨床研究まで高めるための障害を克服するためにすべきことは①研究者・医療従事者・患者の三位一体の研究組織の確立、②研究シーズの知財獲得と医療における研究の最終目標の明確化、③常に臨床現場または市場における自分の研究の意義の確認の 3 点である。それを実現するために東北大学全体の中からシーズごとの研究支援研究室、開発しようとする医療機器に最も関連の深い支援診療科を選定し連携を深める。事業全体として毎日の研究活動の方向性、産業界・患者組織との交流の場を提供する努力を怠らない。このような努力を継続すれば、ここで育った研究者は各大学や企業における臨床研究・治験を最終目標とした

医療機器開発研究推進の原動力になり、日本から世界に通用する医療機器が生まれてくるものと確信する。

TUBERO の経験に基づき知財獲得及び医療従事者との共同研究を推進すると共に、今後の医工学研究を担っていく企業を含めた若手研究者に広く門戸を開放し、問題解決のノウハウを伝授する事を目的とする。それによりシーズを臨床現場や市場に提供し得る医工学研究者の育成が可能となり、ひいては現場のニーズに直結した研究シーズの創出が期待できる。こういった試みこそがこれまでの我が国の医工学領域に最も欠けていたものであり、本事業の最大の特色でもある。

B. 研究方法

医工学若手研究者、企業の研究者を対象に、生命科学、医学、医療の現場で役立つ医療機器開発に必要な知識、患者の全人的な理解、大学病院における現場に基づいたアイデアの創出、機器の改良など医工学分野の「インターン」教育を行う。

(倫理面への配慮)

既に TUBERO において動物による研究、倫理委員会への申請、その後の臨床研究において多くの事例で上記の諸事項は経験を積んでいる。また平成 19 年 9 月に発足した橋渡し研究拠点「未来医工学治療センター」の設置目的が研究の Protokol 作成に始まり、上記の各項目を国際的な基準に従って整備することであり、今まで以上に詳細かつ十分な配慮が制度化され、支援を受けられることになる。

C. 研究結果

工学部出身者に対して 3 日間の病院実習を行った。第 1 日は、感染管理 standard precaution、患者接遇、医療倫理などについて講義が行われた。第 2 日は、手術室、リハビリテーション室などの見学が行われ、そこではたらく職員から生の声を聞く機会が設けられた。さらにシミュレーション室において、縫合などの医療手技の研修がシミュレーション装置を用いて行われた。第 3 日には、患者診療に関する DVD の視聴に続いて、病院実習で学んだことについての質疑応答、議論が行われた。さらに履修した学生に対してアンケートを実施し、本実習への参加度、理解度、実習の良かった点、改善すべき点などの回答を得た。約 30 名の学生が参加し、病院見学では一ヶ所を十分に見る時間をとることが困難であったが、シミュレーションについては大変好評であった。

このように工学系を背景とする社会人や研究者に医学・医療の現場を体験してもらうことの

意義は、医療者が考えていたよりもはるかに大きかった。今回のプログラムをモデルとして、工学系社会人、研究者に特化した病院実習プログラムを開発し、広く提供していく予定である。

D. 考察

工学系社会人、研究者に対する医工連携教育を病院で行うためのプログラム開発は順調に進んでいる。病院との連絡、意思疎通は良好であり、今後の継続実施についても環境は整った。今後は広く参加者を募集し、プログラムを継続するとともに、参加者から教育者を輩出する再生産の仕組みを整えることが肝要であると思われる。

E. 結論

工学系社会人、研究者には、病院での医療・医学研修に対するニーズが高く、適切なプログラムを提供することにより、医工連携は大きく進展すると示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 阿部 浩明、近藤 健男、出江 紳一 : Contraversive pushing を呈した脳卒中例の責任病巣と経過. 理学療法学. 36(2):86-87. 2009. 4.
- 2) Hara A, Ohkubo T, Kondo T, Kikuya M, Aono Y, Hanawa S, Shioda K, Miyamoto S, Obara T, Metoki H, Inoue R, Asayama K, Hirose T, Totsune K, Hoshi H, Izumi S, Satoh H, Imai Y : Detection of silent cerebrovascular lesions in individuals with 'masked' and 'white-coat' hypertension by home blood pressure measurement: the Ohasama study. J Hypertens.

- 27(5):1049-1055. 2009 May
- 3) Abe H, Michimata A, Sugawara K, Sugaya N, Izumi S. Improving Gait Stability in Stroke Hemiplegic Patients with a Plastic Ankle-Foot Orthosis. *Tohoku J Exp Med.* 2009 Jul;218(3):193-199.2009.7
 - 4) Furukawa T, Izumi S, Toyokura M and Masakado Y. Effects of Low-frequency Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation in Parkinson's Disease. *Tokai J Exp Clin Med.*, Vol. 34, No. 3, pp. 63-71, 2009.7
 - 5) 田邊素子、鈴鴨よしみ、出江紳一：家庭用ビデオカメラを使用した地域在住高齢者の片脚立ち動作における姿勢制御のタイプの判別．総合リハビリテーション，37(11) 1041-1048, 2009.10
 - 6) Sugiyama S, Kondo T, Oouchida Y, Suzukamo Y, Higano S, Endo M, Watanabe H, Izumi S : Clinical Utility of Diffusion Tensor Imaging for Evaluating Patients with Diffuse Axonal Injury and Cognitive Disorders in the Chronic Stage. *J Neurotrauma.* 26(11), 1879-90, 2009.11
 - 7) 大内田裕、出江紳一：脳卒中への応用—ミラーニューロンシステムと運動学習—．総合リハビリテーション，38(2)129-133. 2010.2
 - 8) Ono Y, Gnocchi VF, Zammit PS, and Nagatomi R. Presenilin-1 acts via Id1 to regulate the function of muscle satellite cells in a gamma-secretase-independent manner. *J Cell Sci* 122: 4427-4438, 2009.
 - 9) Matsuo K, Zhang X, Ono Y, and Nagatomi R. Acute stress-induced colonic tissue HSP70 expression requires commensal bacterial components and intrinsic glucocorticoid. *Brain Behav Immun* 23: 108-115, 2009.
 - 10) Gondoh Y, Tashiro M, Itoh M, Masud MM, Sensui H, Watanuki S, Ishii K, Takekura H, Nagatomi R, and Fujimoto T. Evaluation of individual skeletal muscle activity by glucose uptake during pedaling exercise at different workloads using positron emission tomography. *J Appl Physiol* 107: 599-604, 2009.
- ## 2. 学会発表
- 1) 沖田太志、高木敏行、永富良一、出江紳一：脳深部磁気刺激における電磁場の構造に関する理論的研究．第48回日本生体医工学会大会、2009年4月23日～25日、東京都
 - 2) 出江紳一、高木敏行、永富良一、大内田裕、中里信和：経頭蓋磁気刺激用コイルのパルス磁場強度測定装置の開発. 第46回日本リハビリテーション医学会学術集会，2009年6月4日～6日、静岡県静岡市、グランシップ
 - 3) 出江紳一、道又 颯、鈴鴨よしみ、瀬田拓、近藤健男、石井誠一：コーチング理論に基づく脳卒中診療医のための医療コミュニケーションスキルトレーニングの効果（第2報）、第46回日本リハビリテーション医学会学術集会，2009年6月4日～6日、静岡県静岡市、グランシップ
 - 4) 杉山 謙、近藤健男、大内田 裕、鈴鴨よしみ、遠藤 実、渡邊裕志、新藤恵一郎、出江紳一：びまん性軸索損傷の高次脳機能障害に対する拡散テンソル画像を用いた画像評価．第46回日本リハビリテーション医学会学術集会，2009年6月4日～6日、静岡県静岡市、グランシップ
 - 5) 森 隆行、古澤義人、西嶋一智、大内田裕、杉山 謙、瀬田 拓、鈴鴨よしみ、近藤健男、出江紳一：経頭蓋磁気刺激の失語症への応用、第46回日本リハビリ

- テーション医学会学術集会, 2009年6月4日~6日、静岡県静岡市、グランシップ
- 6) 古澤義人、森 隆行、西嶋一智、杉山 謙、瀬田 拓、近藤健男、出江紳一：東北大学病院におけるリンパ浮腫診療の取り組み, 第46回日本リハビリテーション医学会学術集会, 2009年6月4日~6日、静岡県静岡市、グランシップ
 - 7) 瀬田 拓、鈴嶋よしみ、安藤 潔、道又 顕、出江紳一：看護師からの評価を題材とした医療コミュニケーション指導は研修医の能力を向上させられるか? (予備的調査)、第46回日本リハビリテーション医学会学術集会, 2009年6月4日~6日、静岡県静岡市、グランシップ
 - 8) 阿部浩明、長嶺義秀、近藤健男、大内田裕、中里信和、井上敬、藤原悟、出江紳一：重症遷延性意識障害者の改善例と非改善例にみられる拡散テンソル画像所見の差異、第18回日本意識障害学会、2009年7月24-25日、埼玉県川越市
 - 9) Izumi S : Clinical application of transcranial magnetic stimulation. 14th International Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics. (ISEM2009). Sep 20-24,2009, Xi'an(China)
 - 10) 杉山謙、近藤健男、大内田裕、鈴嶋よしみ、遠藤実、渡邊裕志、新藤恵一郎、出江紳一：高次脳機能障害を呈すびまん性軸索損傷患者に対する拡散テンソル画像の有用性検討、第4回リハビリテーション科専門医会、2009年10月16-18日、下諏訪
 - 11) Suzukamo Y, Ono M, Izumi S, Takatsu I, Chin S, Yamamura M, Yokoyama T, Sotozono C, Yoshimura N, Yamagata Y, Asonuma S, Asano K, Ando N: The effects of enhanced low vision rehabilitation. 2009 International Society for Quality of Life Research meeting. (New Orleans, 28-31, Oct, 2009)
 - 12) 出江紳一：医工学教育の現状と未来を考える、第3回京都大学ナノメディシン融合教育ユニットシンポジウム. 2009年11月17日、京都府民総合交流プラザ
 - 13) 相澤祐一、森下 城、鹿野理子、森 隆行、出江紳一、筒井健一郎、飯島敏夫、金澤 素、福土 審：直腸機能と情動に対する反復経頭蓋磁気刺激の効果、第70回日本心身医学会東北地方会、2010年2月27日、仙台（良陵会館）
 - 14) 小林順敏、牛凱軍、門間陽樹、関磊、南島大輔、佐藤美加、郭輝、永富良一：歯磨き回数とメタボリックシンドロームの関連性：仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会（新潟）, 2009.9.18
 - 15) 関磊、牛凱軍、門間陽樹、小林順敏、南島大輔、佐藤美加、郭輝、石井賢治、永富良一：中年男性におけるC反応性蛋白と体力レベルとの関連：仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会（新潟）, 2009.9.18
 - 16) 門間陽樹、牛凱軍、小林順敏、関磊、南島大輔、佐藤美加、郭輝、永富良一：年男性における日常的な高インパクト運動と音響的骨評価の関連：仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会（新潟）, 2009.9.18
 - 17) 齊藤 辰典、牛 凱軍、門間 陽樹、小林 順敏、関 磊、南島 大輔、佐藤 美加、郭 輝、永富 良一：中高年勤労者男性における運動意欲と抑うつ傾向との関連：仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会（新潟）, 2009.9.18
 - 18) 重川敬三、牛凱軍、門間陽樹、小林順敏、関磊、南島大輔、佐藤美加、郭輝、永富良一：身体活動量とメタボリックシンドロームとの関連および妥当性について：仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会（新潟）, 2009.9.18

- 19) 南島大輔、牛凱軍、門間陽樹、小林順敏、関磊、佐藤美加、郭輝、石井賢治、永富良一: 脚伸展力とメタボリックシンドロームの関係: 仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.20
- 20) 佐藤美加、牛凱軍、門間陽樹、小林順敏、関磊、南島大輔、郭輝、永富良一: 勤労者における睡眠時間とメタボリックシンドロームの関係: 仙台卸商研究, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.18.
- 21) 宍戸 隆之、牛 凱軍、永富 良一: 青年期学生の身体活動レベルと学業成績及び体力との関連, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.18.
- 22) 佐藤 啓壯、五十嵐 守、齋木 しゅう子、高橋 政行、鈴木 玲子、齋藤 昌宏、河村 孝幸、永富 良一: ノルディックウォークにおける床反力の特徴, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.19
- 23) 松生 香里、藤田 基生、永富 良一: 骨格筋の損傷・再生過程における腸内細菌の重要性について, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.18
- 24) 藤田 基生、松生 香里、永富 良一: LPS刺激による腸管蠕動・腸管平滑筋の機能変化, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.19
- 25) 牛 凱軍、永富 良一: 老人ホーム向きの転倒骨折予防運動プログラム開発の研究: 1年間のケースコントロール研究. 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.20
- 26) 馬島 敏郎、仲村 健二郎、久和 彰江、永富 良一: 簡便な質問紙による健康行動と健康状態の関連, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.19
- 27) 千葉 登、藤本 敏彦、泉水 宏臣、権藤 雄一、永富 良一: 非鍛錬者の4日間自転車運動終了24時間後の局所脳活動変化, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.20
- 28) 小川 静香、井川 俊太郎、永富 良一: 骨格筋分化におけるp53類似遺伝子p51の役割, 第64回日本体力医学会(新潟), 2009.9.18

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究分担者 高橋 明 東北大学 大学院医工学研究科 教授

研究要旨

ラットを用いた誘発脳動脈瘤モデルの開発と、各種薬剤の治療効果の検討を行った。

A. 研究目的

脳動脈瘤の発生、成長、破裂、安定化、治療に関する血流動態および各プロセスの関与を解明し、ことなつたフェーズにおける最適の治療法を開発するための基礎データを得る。

B. 研究方法

脳動脈瘤モデルの開発。既存のモデル(血流負荷=一側総頸動脈結紮、高血圧=部分腎動脈結紮、卵巣摘出)を改良した。本モデルにおける誘発脳動脈瘤の分布、形状などを分類した。本モデルを用いて、Rho-kinase阻害剤(ファスジル)、スタチン(プラバスタチン)、ARB(オルメサルタン)およびスタチンとARBの併用について、誘発動脈瘤の頻度およびステージを走査電顕にて、観察した。

C. 研究結果

モデルの開発においては、既存の方法に比べ、簡便で、同等の誘発効果が得られた。それぞれの薬剤で異なつた治療効果が得られた。ファスジルでは、誘発される脳動脈瘤全体の頻度の抑制が認められたが、ステージ分類における分布においては変化がなかつた。スタチンではより高度の病変への進展が抑制され、オルメサルタンでは病変生成の初期段階が抑制された。スタチンとオルメサルタンの併用では相加的な傾向が認められた。

D. 考察

単純な操作で確実に脳動脈瘤を誘発する動物実験モデルを確立した。薬剤の治療効果はスタチンについては、既存の研究があるが、ファスジルやオルメサルタンについては、初めての結果である。今後、血管内治療のデバイス開発においても、治療効果の増強や、安定化、再発予防の観点から、併用薬物療法の確立、バイオアクティブなデバイスの開発にむすびつく貴重な成果である。またそれぞれの薬剤の作用機序を更に検討することにより、より強力な薬物療法の開発にむすびつく可能性がある。

E. 結論

実験モデルの確立と各種薬剤の治療効果について検討した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Simplified experimental cerebral aneurysm model in rats: Comprehensive evaluation of induced aneurysms and arterial changes in the circle of Willis

Hany Eldawoody, Hiroaki Shimizu,
Naoto Kimura, Atsushi Saito,
Toshio Nakayama, Akira Takahashi,
Teiji Tominaga

Brain Research, Vol. 1300, pp159-168, 2009

Effect of olmesartan and pravastatin on experimental cerebral aneurysms in rats

Naoto Kimura, Hiroaki Shimizu,
Hany Eldawoody, Toshio Nakayama,
Atsushi Saito, Teiji Tominaga, Akira
Takahashi.

Brain Research, Vol. 1322, pp144-152, 2010

Fasudil, a Rho-kinase inhibitor, attenuates induction and progression of cerebral aneurysms: Experimental study in rats using vascular corrosion casts

Hany Eldawoody, Hiroaki Shimizu, Naoto
Kimura,
Atsushi Saito, Toshio Nakamayama,

Akira Takahashi, Teiji Tominaga.

Neuroscience Letters, Vol. 470, pp76-80, 2010

2. 学会発表

Current status and future of CAS
-Possibility to develop new device and method-

XIV World Congress of Neurological Surgery
03SEP. 2009, USA

Paradigm shift of brain aneurysm management -Comprehensive of computer from detection to treatment, from experiment to clinical applications

icici-bme2009 (International Conference on Instrumentation, Communication, Information Thecnology & Biomedical Engineering)
23NOV. 2009, Indonesia

H. 知的財産権の出願状況

特になし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Y.Saito, M.Goto , K.Maya, K.Fujimori, S.Satomi , et al	The Influence of Brain Death on Tissue Factor Expression in the Pancreatic Tissues and Isolated Islets in Rats	Transplantaiton Proceedings	41	307-310	2009
M.Goto , H.Abe, Y.Kurokawa, T.Matuse, S.Satomi , et al	A Novel Predictive Method for Assessing the Quality of Isolated Pancreatic Islets Using Scanning Electrochemical Microscopy	Transplantaiton Proceedings	41	311-313	2009
後藤 昌史	特集 1型糖尿病のトータルケア ここまで進んだ膵島移植	糖尿病診療マスター	8	203-207	2010
Okamura N, Shiga Y, Furumoto S, Tashiro M, Tsuboi Y, Kudo Y , Itoyama Y, Doh-ura K, et al	In vivo detection of prion amyloid plaques using [11C]BF-227 PET	Eur J Nuc Med Mol Imaging	37	934-941	2010
Kikuchi A, Takeda A, Okamura N, , Kudo Y , et al.	In vivo visualization of α -synuclein deposition by carbon-11-labelled 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2-(fluoro)ethoxy]benzoxazole positron emission tomography in multiple system atrophy.	Brain. Doi:10.1093/brain/awq091			2010
Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Waragai M, Furumoto S, Iwata R, Yanai K, Kudo Y , Arai H	Amyloid PET in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease with BF-227: comparison to FDG-PET	J Neurol Doi10.1007/s00415-009-5396-8			2009
Waragai M, Okamura N, Furukawa K, Tashiro M, Furumoto S, Funaki Y, Kato M, Iwata R, Yanai K, Kudo Y , Arai H	Comparison study of amyloid PET and voxel-based morphometry analysis in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease	J Neurol Sci.	285	100-108	2009